

## Центр коллективного пользования «ПЦР в реальном времени»

### История создания

ЦКП «ПЦР в реальном времени» организован в 2009 г. на базе лаборатории молекулярных основ генетики животных и межинститутского сектора молекулярной эпидемиологии и эволюции человека Института цитологии и генетики СО РАН.

История создания ЦКП началась в 2004 г., когда было подписано письмо о намерениях о сотрудничестве в исследовании генетической этиологии инфаркта миокарда между Институтом цитологии и генетики СО РАН, Институтом терапии СО РАМН, Европейским научным центром компании Applied Biosystems и компанией Celera Diagnostics. К тому времени в ИЦиГ СО РАН благодаря многолетнему сотрудничеству специалистов в области генетики, медицины и биоинформатики появились уникальные возможности для быстрого развития и внедрения в медицинскую практику принципиально новых геномных технологий. Практически единственной причиной, сдерживающей развитие в этой области, являлась плохая оснащенность оборудованием. Используемый в то время парк приборов давно морально и материально устарел. Для предоставления пользователям услуг по автоматическому генотипированию образцов ДНК была закуплена система ПЦР в реальном времени ABI Prism 7900HT sequence detection system компании Applied Biosystems (США).

### Направление и организация деятельности

В настоящее время основным направлением деятельности ЦКП является предоставление пользователям услуг по анализу нуклеиновых кислот методом ПЦР в реальном времени на системе ABI Prism 7900HT sequence detection system (рис. 1).

В целях обеспечения техники безопасности и сохранности оборудования все работы выполняются исключительно сотрудниками ЦКП, прошедшими курс обучения и получившими сертификат компании Applied Biosystems.

### Материально-техническая база

Модель 7900HT – единственная система ПЦР в реальном времени, которая оснащена автоматическим устройством подачи планшет (рис. 2). Система разрабатывалась для анализа с использованием зондов

TaqMan, но может также использоваться с другими флуоресцентными красителями. В комплект системы 7900HT входит программа PrimerExpress 3.0, позволяющая разрабатывать собственные эксперименты, дизайн праймеров и зондов для ПЦР.

### Основные характеристики системы

- планшет на 96 лунок;
- многоцветное детектирование;
- возможность проведения мультиплексных исследований;
- автоматическое устройство подачи планшет;
- наличие специального бар-кодинга для плашек;
- высокая производительность;
- возможность работы в течение 24 часов без оператора;
- возможность выполнения разнообразных экспериментов;
- легкое в использовании программное обеспечение;
- большой спектр наборов реагентов и расходных материалов.

### Технические характеристики

- нагрев/охлаждение: элемент Пелтье со сменным блоком на 96 ячеек;
- оптическая система: флуоресцентное детектирование в спектрографе и цифровой SSD-камере; возбуждающий источник – аргонно-ионный лазер с длительным временем жизни;
- скорость нагрева/охлаждения: скоростной режим  $\pm 3,0$  °C/сек; стандартный режим  $\pm 1,6$  °C/сек.
- диапазон температур: 4–100 °C;
- точность температуры:  $\pm 0,25$  °C (в диапазоне от 35 до 95 °C);
- температурная однородность по блоку:  $\pm 0,5$  °C;
- красители: SYBR® GreenDyeI, FAM™, VIC™, JOE™, NED™, ROX™, TAMRA™, TET™.

Система предназначена для абсолютной и относительной количественной оценки нуклеиновых кислот (рис. 3), генотипирования SNP (рис. 4) и анализа кривых диссоциации (рис. 5). Подробные протоколы и методики можно найти на сайте компании Applied Biosystems (<https://products.appliedbiosystems.com/>).



Рис. 1. Общий вид системы ABI Prism 7900HT sequence detection system.



Рис. 2. Автоматическое устройство для подачи планшет.



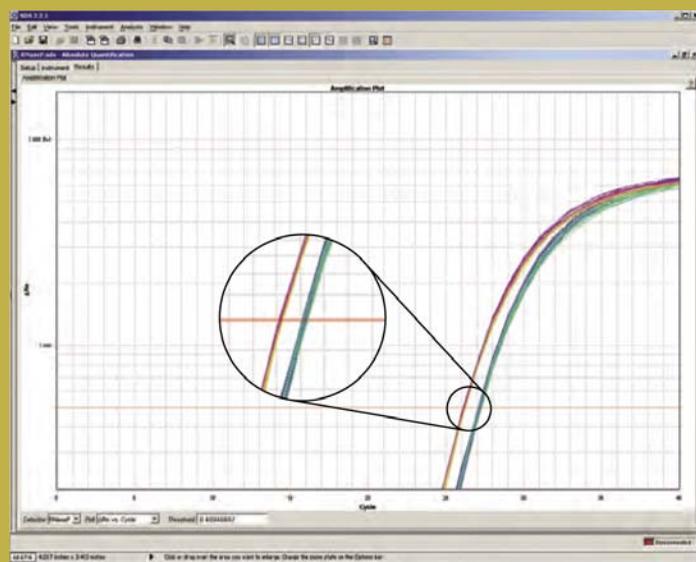


Рис. 3. Результаты амплификации гена RNase P из геномной ДНК человека с использованием технологии TaqMan.

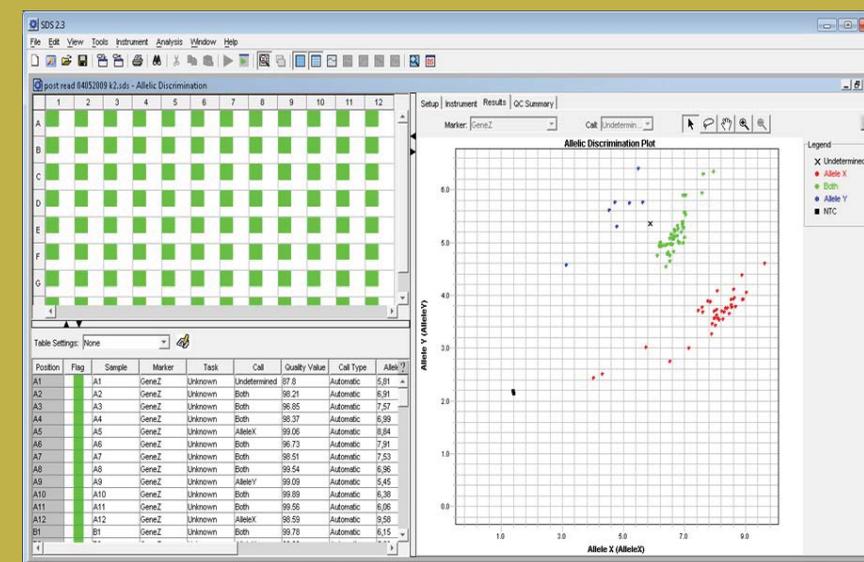


Рис. 4. Результаты анализа SNP rs4804611 в гене ZNF627 человека.

#### Источники снабжения реактивами

- Компания «Химэксперт» 127030, г. Москва, ул. Краснопролетарская, д. 7, тел./факс: (499) 973-92-80, e-mail: info@khimexpert.ru
- Компания «Синтол» 127550, Москва, ул. Тимирязевская, 42, тел. 984-69-93, e-mail: syntol@iab.ac.ru

#### Востребованность ЦКП

Возможности ЦКП используют в своей работе сотрудники следующих структурных подразделений ИЦиГ СО РАН:

- лаборатории молекулярных основ генетики животных;
- межинститутского сектора молекулярной эпидемиологии и эволюции человека;
- лаборатории морфологии и функции клеточных структур;
- лаборатории эволюционной генетики;
- лаборатории генетики популяций;
- лаборатории генетики развития.

Другие организации, использующие возможности ЦКП

- Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН;
- НИИ терапии СО РАМН.

#### Правила работы в ЦКП для сотрудников ИЦиГ СО РАН

- Заявка на проведение работ должна быть предоставлена не менее чем за сутки до проведения работ.
- Заявка должна быть согласована с сотрудником ЦКП, который будет проводить работы, и с заведующим лабораторией, в которой работает сотрудник, оформляющий заявку.

- Заявка готовится пользователем в виде файла в формате SDS 7900HT Software.
- Заявки могут быть предоставлены либо по электронной почте кому-либо из сотрудников ЦКП, либо на флеш-карте.
- Подготовленные плашки должны быть оставлены в холодильнике.
- Результаты высылаются пользователю по электронной почте на следующий день.

#### Общие правила работы в ЦКП для сторонних пользователей

Заявка на проведение работ должна быть предоставлена не менее чем за 2 недели до начала работ. В течение этого времени заявка согласовывается с дирекцией ИЦиГ СО РАН и оформляется в виде официального договора на проведение работ. Для сторонних организаций возможны два варианта договоров.

- Договор о научно-техническом сотрудничестве.** При этом стороны обязуются добровольно координировать свои исследования в интересующей области и информировать партнеров о совместных публикациях, конференциях, конкурсах грантах и т. д. Результаты совместных исследований в равной степени могут быть использованы обеими сторонами в своих выступлениях, отчетах и публикациях по предварительному согласованию с партнером. При этом ИЦиГ СО РАН берет на себя часть затрат по проведению НИР и получает права на участие в научных публикациях.
- Договор о создании научно-технической продукции.** При этом заказчик (сторонняя организация) поручает, а исполнитель (ИЦиГ СО РАН) принимает на себя обязательства по созданию научно-технической

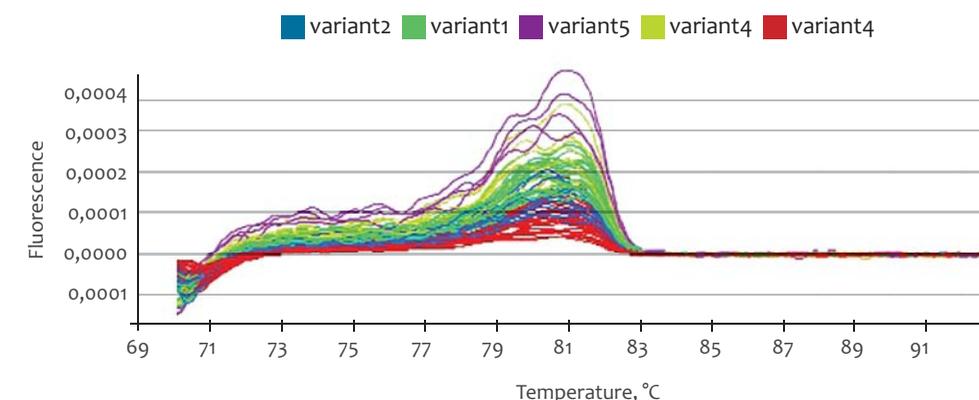


Рис. 5. Результаты анализа кривых плавления, нормированных на референсную кривую (образец дикого типа).

продукции. Научные и другие требования к научно-технической продукции указываются в техническом задании, содержание и сроки выполнения основных этапов определяются календарным планом, приемка и оценка научно-технической продукции осуществляется в соответствии с требованиями технического задания и оформляется актом сдачи-приемки. К договору прилагается протокол о согласовании договорной цены, согласно которому заказчик берет на себя все финансовые расходы по проведению работ. При этом ИЦиГ СО РАН отказывается от права на созданную интеллектуальную собственность, однако заказчик обязан указать в публикациях, что «работа проводилась в ЦКП „ГЦПР в реальном времени“ ИЦиГ СО РАН».

После подписания соответствующего договора заказчик

обязан предоставлять заявки в ЦКП в том же порядке, что и сотрудники ИЦиГ СО РАН.

#### Контактная информация

Руководитель ЦКП к.б.н. Николай Серафимович Юдин  
г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10,  
ИЦиГ СО РАН  
тел.: +7(383) 363-49-74  
e-mail: yudin@bionet.nsc.ru  
Ответственный за техническую эксплуатацию  
к.м.н. Игорь Вячеславович Куликов  
e-mail: kulikov\_iv@mail.ru